

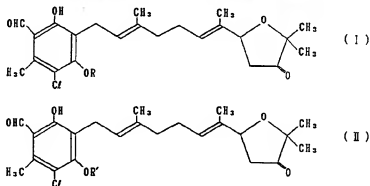


特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5 C07D 307/32, A61K 31/34	A1	(11) 国際公開番号 WO 94/04520 (43) 国際公開日 1994年3月5日 (03.03.1994)
(21) 国際出願番号 PCT/JP93/01135 (22) 国際出願日 1993年8月11日 (11. 08. 93) (30) 優先権データ 特許平4/214124 1992年8月11日 (11. 08. 92) JP 特許平5/18904 1993年2月5日 (05. 02. 93) JP (71) 出願人 (米国の除外するすべての指定国について) 株式会社 イムノジャパン (IMMUNO JAPAN INC.) [JP/JP] 〒167 東京都杉並区荻窪4丁目80番1 Tokyo, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国の除外するすべての指定国について) 細川知良 (HOSOKAWA, Tomoyoshi) [JP/JP] 〒222 神奈川県横浜市港北区菊名6丁目10番18号 Kanagawa, (JP) (74) 代理人 弁護士 斎藤泰三, 外 (YUASA, Kyozeo et al.) 〒100 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206号 斎藤法律特許事務所 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AT (欧州特許), BE (欧州特許), CH (欧州特許), DE (欧州特許), DK (欧州特許), ES (欧州特許), FR (欧州特許), GB (欧州特許), GR (欧州特許), IE (欧州特許), IT (欧州特許), JP, LU (欧州特許), MC (欧州特許), NL (欧州特許), PT (欧州特許), SE (欧州特許), US.		添付公開書類 国際調査報告書

(54) Title : ASCOFURANONE, AND HYPOLIPIDEMIC AGENT, HYPOGLYCEMIC AGENT AND GLYCATION INHIBITOR EACH CONTAINING ASCOFURANONE DERIVATIVE AS ACTIVE INGREDIENT

(54) 発明の名称 アスコフランノン及びアスコフランノン誘導体を主成分とする血中脂質低下剤、血糖低下剤並びにグリケーション阻害剤

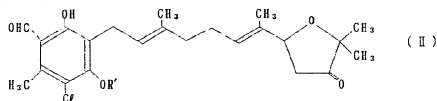


(57) Abstract

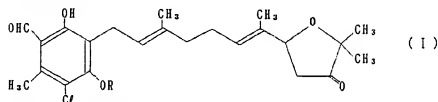
An ascofuranone derivative represented by general formula (II) (wherein R¹ represents lower alkylcarbonyl, pyridylcarbonyl, benzoyl substituted by one lower alkyl or alkoxy group, toluenesulfonyl, carbamoyl substituted by one or two lower alkyl groups, or lower alkyl substituted by lower alkoxy carbonyl); a hypolipidemic agent containing the same as the active ingredient; and a hypoglycemic agent or a glycation inhibitor each containing an ascofuranone derivative represented by general formula (I) (wherein R represents hydrogen, lower alkylcarbonyl, pyridylcarbonyl, benzoyl substituted by one lower alkyl or alkoxy group, toluenesulfonyl, carbamoyl substituted by one or two lower alkyl groups, or lower alkyl substituted by lower alkoxy carbonyl) as the active ingredient. The compounds represented by the above general formulae (I) and (II) are excellent in hypoglycemic, hypolipidemic and glycation-inhibiting effects, thus being remarkably useful for preventing and treating diabetes, arteriosclerosis and so forth.

(57) 要約

一般式 (II)



(式中、R' は低級アルキルカルボニル基、ピリジルカルボニル基、1個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンスルホニル基、1個もしくは2個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する) で示されるアスコフラノン誘導体及びこの誘導体を有効成分として含有する血中脂質低下剤、並びに一般式 (I)



(式中、R は水素原子、低級アルキルカルボニル基、ピリジルカルボニル基、1個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンスルホニル基、1個もしくは2個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する) を有効成分として含有する血糖低下剤又はグリケイション阻害剤。

上記式 (I) 又は (II) で示される化合物は、優れた血糖低下、血中脂質低下作用及びグリケイション阻害作用を示すので、糖尿病、動脈硬化症等の予防薬、治療薬として極めて有用である。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出版のパンフレット第1頁にPCT加盟国を特定するために使用されるコード

AT オーストリア	CS チェッコスロヴァキア	KR 大韓民国	PL ポーランド
AU オーストラリア	CZ チェッコ共和国	KZ カザフスタン	PT ポルトガル
BE ベルギー	DE ドイツ	LI リヒテンシュタイン	RO ルーマニア
BF ブルキナファソ	DK デンマーク	LK スリランカ	RU ロシア連邦
BG ブルガリア	ES スペイン	LU ルクセンブルグ	SD スーダン
BJ ベナン	FI フィンランド	LV ラトヴィア	SE スウェーデン
BR ブラジル	FR フランス	MC モナコ	SI スロヴェニア
BY ベラルーシ	GA ガボン	MG マダガスカル	SK スロヴァキア共和国
CA カナダ	GB イギリス	ML マリ	SN セネガル
CF 中央アフリカ共和国	GR ギリシア	MN モンゴル	TD チャド
CG コンゴ	IR イラン	MR モリタニア	TG トーゴ
CH スイス	IE アイルランド	MW マラウイ	UA ウクライナ
CI コート・ジボアール	IT イタリア	NE ニジェール	US 米国
CM カメルーン	JP 日本	NL オランダ	UZ ウズベキスタン共和国
CN 中国	KP 朝鮮民主主義人民共和国	NO ノルウェー	VN ベトナム
		NZ ニュージーランド	

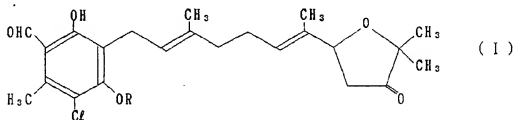
明 細 書

アスコフラノン及びアスコフラノン誘導体を主成分
とする血中脂質低下剤、血糖低下剤並びにグリケイ
ション阻害剤

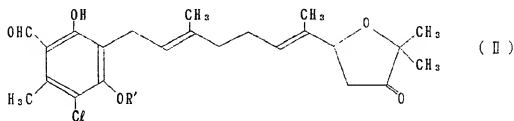
5 技術分野

本発明は下記の一般式（Ⅰ）で示されるアスコフラノン及び
その誘導体を有効成分とする血糖低下剤及びグリケイション阻
害剤、並びに下記の一般式（Ⅱ）で示されるアスコフラノン誘
導体及びこれらを有効成分とする血中脂質低下剤に関する。

10



15



20

（式中、Rは水素原子、低級アルキルカルボニル基、ビリジル
カルボニル基、1個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ
基で置換されたベンゾイル基、トルエンスルホニル基、1個も
しくは2個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又
は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味し、R'は
25 低級アルキルカルボニル基、ビリジルカルボニル基、1個の低

級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンスルホニル基、1個もしくは2個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコシカルボニル低級アルキル基を意味する。)

5 背景技術

上記一般式(I)で示される化合物のうち、Rが水素原子の化合物は本発明者等により発明されたアスコフラノンとして知られている化合物である。アスコフラノンは、糸状菌アスコキイタ・ビシエ (*Ascochyta visiae*) によって産生されるイソプレノイド系抗生物質であり、その具体的製法は特公昭56-25310号公報に記載されている。アスコフラノンの生物活性としては、これまでに血清脂質低下作用(「ジャーナル・オブ・アンチバイオティクス」26巻, 681頁, 1973年及び「ジャパン・ジャーナル・オブ・ファーマコロジー」25巻, 35頁, 1975年参照)が知られている。

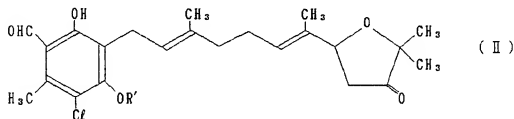
また、アスコフラノン製造時に上記糸状菌から生産されるアスコクロリンおよび、その誘導体の血糖低下作用についてはすでに知られている(特公平3-6138号公報参照)。

発明の開示

20 本発明者は、アスコフラノンの薬剤としての新たな有用性を探るために鋭意研究を重ねた結果、アスコフラノンが優れた血糖低下作用を有することを見出した。のみならず、上記一般式(II)で示される新規なアスコフラノン誘導体もアスコフラノンと同様に優れた血糖低下作用を有することを発見した。更に、糖尿病性合併症の原因の一つとしてグリケイションを受け

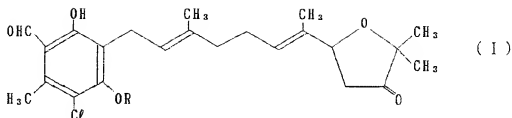
た糖化蛋白の組織並びにリポ蛋白での増加が注目されているが、上記一般式（Ⅰ）で示される化合物が強力なグリケイション阻害作用を示すことを発見した。また、アスコフラノンを含む上記一般式（Ⅰ）で示される化合物がアスコクロリンおよびその誘導体と比較して低毒性であることを見出した。更に、一般式（Ⅱ）で示される新規なアスコフラノン誘導体は優れた血中脂質低下作用を有することも見出した。本発明はこれらの知見に基づいて完成されたものである。

本発明は一般式（Ⅱ）



（式中R'は低級アルキルカルボニル基、ビリジルカルボニル基、1個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンスルホニル基、1個もしくは2個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する）で示されるアスコフラノン誘導体及び該誘導体を有効成分として含有する血中脂質低下剤に関する。

更に、本発明は一般式（Ⅰ）



5

(式中、R は水素原子、低級アルキルカルボニル基、ピリジルカルボニル基、1 個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンスルホニル基、1 個もしくは 2 個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する) で示される化合物を有効成分として含有する血糖低下剤並びにグリケイション阻害剤に関する。

10

上記の本発明化合物の置換基において、低級アルキルおよび低級アルコキシとは、それぞれ、炭素数 1 ～ 6 のアルキルおよび炭素数 1 ～ 6 のアルコキシを意味する。

15

ピリジルカルボニル基において、ピリジン環上におけるカルボニルの置換位置は 2 位 (すなわち、ピコリノイル)、3 位 (すなわち、ニコチノイル)、4 位 (すなわち、イソニコチノイル) のいずれであっても良い。

20

ベンゾイル基のベンゼン環上におけるアルキル基もしくは低級アルコキシ基の位置は、オルト位、メタ位、パラ位のいずれであっても良い。

25

本発明においてトルエンスルホニル基とは、オルトトルエンスルホニル基、メタトルエンスルホニル基、パラトルエンスルホニル基のうちのいずれかを意味する。

本発明において、一般式（Ⅱ）で示される化合物は新規化合物であり、これらの化合物はアスコフラノン为原料として、例えば酸ハロゲン化物、酸無水物、場合によってはシアネート、イソシアネート等の酸の反応性誘導体を縮合剤（ピリジン類、トリエチルアミンのような３級アミン、ジメチルアニリン、アルカリ塩基等）の存在下あるいは縮合剤を無添加で反応させることによって製造される。

一般式（Ⅱ）で示される本発明化合物のうち、代表的なものとして以下の化合物を挙げることができる。

- 10 ４－Ｏ－アセチルアスコフラノン（実施例－５の化合物）
- ４－Ｏ－プロピオニルアスコフラノン
- ４－Ｏ－ブチルアスコフラノン
- ４－Ｏ－イソニコチノイルアスコフラノン（実施例－１の化合物）
- 15 ４－Ｏ－ニコチノイルアスコフラノン
- ４－Ｏ－ピコリノイルアスコフラノン（実施例－５の化合物）
- ４－Ｏ－メチルカルバモイルアスコフラノン
- ４－Ｏ－エチルカルバモイルアスコフラノン
- ４－Ｏ－ジメチルカルバモイルアスコフラノン
- 20 ４－Ｏ－ジエチルカルバモイルアスコフラノン（実施例－２の化合物）
- ４－Ｏ－メトキシカルボニルメチルアスコフラノン（実施例－４の化合物）
- ４－Ｏ－メトキシカルボニルエチルアスコフラノン
- 25 ４－Ｏ－メトキシカルボニルプロピルアスコフラノン

4-O-エトキシカルボニルメチルアスコフラノン

4-O-エトキシカルボニルエチルアスコフラノン

4-O-エトキシカルボニルプロピルアスコフラノン (実施

例-3の化合物)

5 4-O-パラメチルベンゾイルアスコフラノン

4-O-パラメトキシベンゾイルアスコフラノン (実施例-

5の化合物)

4-O-パラエチルベンゾイルアスコフラノン

4-O-パラエトキシベンゾイルアスコフラノン

10 4-O-オルトメチルベンゾイルアスコフラノン

4-O-オルトメトキシベンゾイルアスコフラノン

4-O-オルトエチルベンゾイルアスコフラノン

4-O-オルトエトキシベンゾイルアスコフラノン

4-O-パラトルエンシルホニルアスコフラノン (実施例-

15 5の化合物)

4-O-オルトトルエンシルホニルアスコフラノン

4-O-メタトルエンシルホニルアスコフラノン

なお、アスコフラノンは、一般式 (I) で示される化合物において、Rが水素原子の化合物である。

20 本発明の化合物を薬剤として用いる場合は単独で用いてもよいが、通常は懸濁剤、賦形剤又はその他の補助剤と混合して経口投与に適する剤形として製剤化することが望ましい。賦形剤または補助剤としては乳糖、蔗糖、種々の澱粉、ぶどう糖、セルロース、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、
25 ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸塩、タルク、植物油、

レシチン等を用いて製造することができる。

発明を実施するための最良の形態

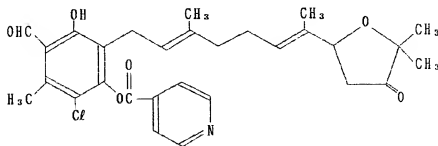
以下に本発明を実施例に基づいて詳細に説明するが、これは本発明を何等限定するものではない。

5 実施例

実施例－1

アスコフラノン 1.68 g (3.99 ミリモル) を乾燥ピリジン 50 ml に溶かし攪拌しつつイソニコチン酸クロライド塩酸塩 1.1 g (6.18 ミリモル) を加え、80－90℃で24時間加熱攪拌ののち、反応溶液を減圧濃縮乾固した。残渣を酢酸エチルに溶解し、希塩酸、水にて洗浄、乾燥後、酢酸エチルを減圧濃縮し、残留する油状物をシリカゲルクロマトグラフィーにて、分離精製した。下記の式で示される目的物が油状物として 1.8 g 得られた。

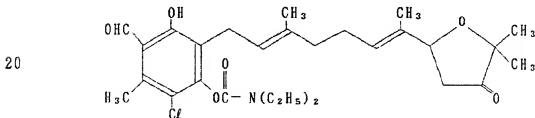
15 プロトン核磁気共鳴 < 400 MHz, CDCl_3 , 内部標準 TMS >
 δ : 1.21 (3H, s)、1.28 (3H, s)、1.54 (3H, s)、1.62 (3H, s)、1.93 (2H, m)、2.17 (2H, m)、2.40 (2H, m)、2.69 (3H, s)、3.50 (2H, m)、4.52 (1H, dd, $J=6.2, 9.9\text{Hz}$)、5.09 (1H, t $J=7.0\text{Hz}$)、5.48 (1H, t $J=7.0\text{Hz}$)、8.04 (2H, dd, $J=1.5, 4.4\text{Hz}$)、8.91 (2H, dd, $J=1.5, 4.4\text{Hz}$)、10.34 (1H, s)、12.61 (1H, s)



実施例 - 2

アスコフラノン 2.52 g (5.99 ミリモル) を乾燥ピリジン
 50 ml に溶かし、これに N, N-ジエチルカルバモイルクロラ
 イド 1.5 g (10.84 ミリモル) を加えて 80-90 °C で 24
 5 時間加熱攪拌した。酢酸エチルにて残渣を溶解し、希塩酸、水
 にて洗浄、乾燥後、酢酸エチルを減圧濃縮した。残留する油状
 物をシリカゲルクロマトグラフィーにて分離し、油状の目的物
 をエタノールに溶解し、室温に放置すると下記の式で示される
 目的物の結晶 1.0 g が析出した。エタノールから再結晶した標
 10 本は融点 69-70 °C を示した。

プロトン核磁気共鳴 < 400 MHz, CDCl_3 , 内部標準 TMS >
 δ : 1.21 (3H, t, $J=7.0\text{Hz}$)、1.21 (3H, s)、1.28 (3H, s)、1.31 (3H,
 t, $J=7.0\text{Hz}$)、1.63 (3H, s)、1.74 (3H, s)、2.02 (2H, m)、2.13 (2H,
 m)、2.40 (2H, br m)、2.64 (3H, s)、3.24 (1H, br s)、3.40 (3H,
 15 q, $J=7.0\text{Hz}$)、3.50 (2H, m)、4.51 (1H, dd, $J=6.6, 9.5$)、5.15 (1H,
 dd, $J=5.5, 7.0$)、5.51 (1H, t, $J=7.0$)、10.28 (1H, s)、12.53 (1H,
 s)

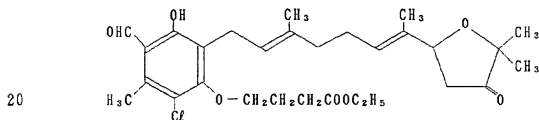
実施例 - 3

アスコフラノン 2.52 g (5.99 ミリモル) をジメチルホル
 ムアミド 50 ml に溶かす。これに 60 % 水素化ナトリウム 0.2
 25

g を少しづつ加える。得られたナトリウム塩の溶液に 4-ブロ
ム酪酸エチルエステル 1.8 g (9.3 ミリモル) を加え、90-
100℃ に 3 時間加熱する。つぎに 60% 水素化ナトリウム
0.1 g 及び 4-ブロム酪酸メチルエステル 0.5 g を追加し、さ
5 らに 10 時間加熱する。反応溶液を減圧濃縮乾固し、残留物を
1% 塩酸 40 ml 及びクロロホルム 40 ml で分液する。

クロロホルム液を減圧濃縮乾固する。残留する油状物をシリ
カゲルクロマトグラフィーにより分離精製し、下記の式で示さ
れる目的物が油状物として 1.2 g 得られた。

10 プロトン核磁気共鳴 < 400 MHz, CDCl₃, 内部標準 TMS >
δ : 1.03 (3H, br s)、1.76 (3H, br s)、2.03 (2H, m)、2.17 (4H,
m)、2.34 (1H, dd, J=9.9 Hz, 18.3 Hz)、2.41 (1H, dd, J=6.2 Hz, 18.3
Hz)、2.62 (2H, m)、2.62 (3H, s)、3.35 (2H, d, J=6.6 Hz)、3.97
(2H, t, J=6.0 Hz)、4.16 (2H, q, J=7.0 Hz)、4.51 (1H, dd, J=6.2 Hz,
15 9.9 Hz)、5.17 (1H, dd, J=6.6 Hz, J=5.5 Hz)、5.50 (1H, t, J=6.6 Hz)、
10.24 (1H, s)、12.51 (1H, s)

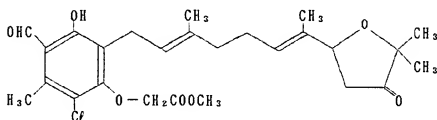


実施例 - 4

アスコフラノン 2.52 g (5.99 ミリモル) をジメチルホル
ムアミド 30 ml に溶かす。これに 60% 水素化ナトリウム 0.2
25 g を少しづつ加える。得られたナトリウム塩の溶液にブロム酢

酸メチルエステル 1.5 g (9.8 ミリモル) を加える。室温に一夜放置した後さらに 60 % 水素化ナトリウム 0.02 g およびプロム酢酸メチルエステル 0.15 g を加える。一夜放置した後、減圧濃縮する。残った油状物に 1 % 塩酸 100 ml およびクロロホルム 100 ml を加えて分液ロートにて攪拌し、クロロホルム層を分取し濃縮乾固する。残った油状物にメタノールを加えて一夜放置すると目的物の結晶 1.9 g が析出した。メタノールから再結晶した標品は融点 77 °C を示した。

プロトン核磁気共鳴 < 400 MHz, CDCl_3 , 内部標準 TMS >
 δ : 1.21 (3H, s)、1.27 (3H, s)、1.63 (3H, s)、1.76 (3H, s)、2.03 (2H, m)、2.14 (2H, m)、2.35 (1H, dd $J=10.3\text{Hz}$, 18.3Hz)、2.43 (1H, dd $J=6.2\text{Hz}$, 18.3Hz)、2.64 (3H, s)、3.45 (2H, d $J=7.0\text{Hz}$)、3.84 (3H, s)、4.52 (1H, dd $J=6.2\text{Hz}$, $J=10.3\text{Hz}$)、4.58 (2H, s)、5.16 (1H, dd $J=5.5\text{Hz}$, $J=7.0\text{Hz}$)、5.50 (1H, t $J=7.0\text{Hz}$)、10.26 (1H, s)、12.52 (1H, s)



実施例 - 5

上記各実施例と同様にして、アスコフラノン及びそれぞれ対応する酸クロライド又はスルホニルクロライドから次の化合物を製造した。

(a) 4-オ-パラメトキシベンゾイルアスコフラノン (黄褐色

油状物)

- (b) 4-O-アセスルアスコフラノン (黄褐色油状物)
- (c) 4-O-ビコリノイルアスコフラノン (黄褐色油状物)
- (d) 4-O-バラトルエンシルホニルアスコフラノン (褐色油状物)

5

本発明のアスコフラノンならびにその誘導体のグリケイション阻害作用ならびに血糖低下作用を検討するために *in vivo*, *in vitro* 実験を行った。グリケイション阻害作用は牛血清アルブミンとグルコースを含む反応液にアスコフラノンならびにその誘導体を添加し、長期間培養して、生成したフルクトースーリジンの酸加水分解産物フロシン量を測定するとともに、リボース、アルギニン、リジンを含む反応液にアスコフラノンならびにその誘導体を添加して培養し、生成したグリケイション後期段階化合物のひとつであるペントシジン量を測定することによってアスコフラノンならびにその誘導体のグリケイション阻害効果を検討した。血糖低下作用は遺伝性糖尿病 *db/db* マウスとストレプトゾトシン糖尿病マウスにアスコフラノンならびにその誘導体を経口投与して血糖値を測定することによって血糖低下効果を検討した。

10

15

20 実施例-6

25 mg/ml の牛血清アルブミンと 400 mM のグルコースを含む反応液に 0.1, 0.4, 1.6 mg/ml のアスコフラノンを添加し、37℃で14日間培養した。生成したフロシンを高速液体クロマトグラフィー (280 nm, 0.7 mM リン酸) で測定し、その面積で表示した。その結果を表1に示した。

25

表 1

		フロシン	阻害率(%)
5	アスコフラノン 0 mg/ml	373437±20444	
	0.1	351979±10845	5.8 %MS
	0.4	318517±17772	14.7 % *
	1.6	276718±15091	25.9 **
	平均±標準誤差	* p < 0.05	** p < 0.01

表1に示すようにアスコフラノン0.4, 1.6 mg/ml添加により、フロシンの生成を有意に阻害した。

実施例-7

25 mg/mlの牛血清アルブミンと400 mMのグルコースを含む反応液に、各1 mg/mlのアスコフラノンとその誘導体を添加し、37℃、12日間培養した。生成したフロシンを高速液体クロマトグラフィーで測定し、その面積で表示した。

結果は表2に示した。

13

表 2

	フロシン	阻害率(%)
無 添 加	237926±6192	
5 4-0-イソニコチノイル アスコフラノン	258355±16901	0
4-0-エトキシカルボニル プロピルアスコフラノン	198542±4238	16.6% *
10 4-0-メトキシカルボニル メチルアスコフラノン	196292±2784	17.5% *
4-0-ジエチルカルバモイル アスコフラノン	198644±9458	20.7% **
4-0-ジメチルカルバモイル アスコフラノン	185431±10611	22.6% **
15 アスコフラノン	178829±13411	24.8% **
平均±標準誤差	* p < 0.05	** p < 0.01

結果は表2に示すようにアスコフラノンとその誘導体は何れもフロシンの生成を有意に阻害した。

実施例-8

各10mMのリボース、アルギニン、リジンを含む反応液に20, 100, 500, 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のアスコフラノンを添加し、37℃、4, 8日間培養した。生成したペントシジンを高速液体クロマトグラフィー（励起335、蛍光385、7mMリン酸）で測定し、その面積で表示した。結果は表3に示した。

表 3

		ペントシジン (阻害率%)	
		4 日間	8 日間
5	アスコフラノン 0 $\mu\text{g}/\text{ml}$	310249 \pm 6061	507788 \pm 18683
	20	58405 \pm 2401 (81.2% **)	91195 \pm 7067 (82.0% **)
	100	0 (100% **)	22942 \pm 1894 (95.5% **)
	500	0 (100% **)	0 (100% **)
10	1000	0 (100% **)	0 (100% **)
平均 \pm 標準誤差		** p < 0.01	

- 15 結果は表 3 に示すように、アスコフラノン1000, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加では100%、100, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加でもペントシジンの生成を有意に阻害した。

実施例-9

- 20 各10mMのリボース、アルギニン、リジンを含む反応液に、各1mg/mlのアスコフラノンとその誘導体を添加し、37℃、8日間培養した。生成したペントシジンを高速液体クロマトグラフィーで測定し、その面積で表示した。結果を表4に示した。

表 4

		ベントシジン (阻害率 %)	
無 添 加		608457 ± 24314	
5	4-O-メトキシカルボニル メチルアスコフラノン	0	(100% **)
	アスコフラノン	0	(100% **)
	4-O-ジメチルカルバモイル アスコフラノン	703972 ± 3317	(0% ns)
10	4-O-ジエチルカルバモイル アスコフラノン	883578 ± 10048	(0% ns)
	4-O-エトキシカルボニル プロピルアスコフラノン	58801 ± 5650	(90.3% **)
	4-O-イソニコチノイル アスコフラノン	0	(100% **)
平均 ± 標準誤差		* p < 0.01	

結果は表 4 に示すようにアスコフラノン、4-O-メトキシカルボニルメチルアスコフラノン、4-O-エトキシカルボニルプロピルアスコフラノン、4-O-イソニコチノイルアスコフラノンはベントシジンの生成を 90% 以上、阻害した。

実施例-10

8 週齢の雄性遺伝性糖尿病 db/db マウスにアスコフラノン又は、その誘導体 0.3% を含む飼料 (日本クレア、CE-2) を 1 週間与え、7 日目に屠殺して血糖ならびに血中中性脂肪を測定した。結果を表 5 に示した。

表 5

	化合物	血糖 mg / dl		中性脂肪 mg / dl	
5	対照群	594.1 \pm 12.5		331.9 \pm 15.8	
	アスコフラノン	458.4 \pm 39.5		271.6 \pm 12.8	
		(-22.8% *)		(-18.2% *)	
10	4-0-イソニコチノイル	504.7 \pm 48.8		285.4 \pm 19.5	
	アスコフラノン	(-15.0% *)		(-14.0% *)	
	4-0-ジエチルカルバモイ	463.7 \pm 40.4		202.6 \pm 23.0	
	ルアスコフラノン	(-21.9% *)		(-39.0% **)	
	4-0-パラメトキシベンゾ	470.4 \pm 33.8		218.3 \pm 12.8	
	イルアスコフラノン	(-20.8% *)		(-34.2% **)	
15	4-0-バラトルエンスルホ	488.4 \pm 30.7		293.1 \pm 20.3	
	ニルアスコフラノン	(-17.8% *)		(-11.7% *)	
	平均 \pm 標準誤差	* $p < 0.05$		** $p < 0.01$	

結果は表5に示すように実験に用いたすべての化合物が血糖ならびに血中中性脂肪低下作用を示した。

実施例-11

160 mg / kg のストレプトゾトシンを腹腔内投与した d d Y
 マウスに各 8 mg / kg のアスコフラノンとその誘導体を7日間、
 経口投与し、血糖値を測定した。

17

表 6

	体重 (g)	血糖 (mg/dl)
対照群	30.1±0.5	430.9±47.5
5 アスコフラノン	30.1±0.7	348.4±30.8 -19.1% *
4-0-ジメチルカルバモイル アスコフラノン	31.0±0.9	357.0±42.5 -17.2% *
10 4-0-ジエチルカルバモイル アスコフラノン	29.8±0.9	303.8±26.2 -29.5% **
4-0-イソニコチノイル アスコフラノン	30.9±0.5	323.8±30.2 -23.2% *
4-0-エトキシカルボニル プロビルアスコフラノン	31.1±0.6	305.6±20.9 -29.1% **
15 平均±標準誤差	* p < 0.05	** p < 0.01

結果は表6に示すように、アスコフラノンとその誘導体はいずれもストレプトゾトシン投与マウスの血糖値を有意に低下した。

実施例-12

8週齢の雄性遺伝性糖尿病db/dbマウスとその正常同腹仔にアスコフラノン0.3%を含む飼料(日本クレア、CE-2)を1週間与え、7日目に屠殺して血糖ならびに血中中性脂肪を測定した。結果を表7に示した。

25

表 7

	体重	血 糖	中性脂肪
	g	mg / dl	mg / dl
5 db/dbマウス			
対照群	4 6 ± 1	5 2 3 ± 2 4	2 8 8 ± 1 8
アスコフラノン	4 8 ± 1	4 0 5 ± 4 8	2 3 9 ± 1 1
	n s	- 2 3 % *	- 1 7 % *
正常同腹仔			
10 対照群	2 5 ± 1	1 6 7 ± 1 5	2 1 6 ± 8
アスコフラノン	2 3 ± 1	1 6 3 ± 1 5	1 6 7 ± 1 8
	n s	n s	- 2 3 % *
平均 ± 標準誤差		* p < 0.05	

表 7 に示すように db/db マウスにアスコフラノンを餌に混合して与えることによって血糖値と血中中性脂肪値は有意に低下した。

実施例 - 13

8 週齢の雄性遺伝性糖尿病 db/db マウスに 2 % アラビアゴムに懸濁したアスコフラノン 391, 156, 63 mg/kg を 7 日間、経口投与した。結果を表 8 に示した。

表 8

	アスコフラノンの投与量	血糖	中性脂肪
		mg/dl	mg/dl
5	0 (対照群)	615 ± 16	332 ± 16
	391 mg/kg	405 ± 31	203 ± 23
		-34% **	-39% **
	156 mg/kg	433 ± 41	218 ± 18
10		-32% *	-34% **
	63 mg/kg	530 ± 12	272 ± 13
		-15% *	-22% *
	平均 ± 標準誤差	* p < 0.05	** p < 0.01

表 8 に示すようにアスコフラノンの懸濁液を 7 日間経口投与することによって血糖値と血中中性脂肪値は有意に低下した。

15 実施例 - 14

ddY マウスにアスコフラノン又はその誘導体をそれぞれ 8 mg/kg、7 日間経口投与した。結果は表 9 に示した。

表 9

	化合物	血 糖	中性脂肪	コレステロ ール
		(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
	対照群	244.1±9.6	190.7±16.9	190.5±7.8
5	アスコフラノン	253.7±12.5	189.1±11.7	202.0±7.8
		ns	ns	ns
	4-0-ジエチルカルバモ	236.4±21.9	157.3±23.2	163.0±10.6
	イルアスコフラノン	ns	-17.5% *	ns
	4-0-ジメチルカルバモ	288.3±18.0	231.0±24.8	173.1±7.2
10	イルスコフラノン	ns	ns	ns
	4-0-イソニコチノイル	283.3±11.7	164.3±14.0	166.7±8.1
	アスコフラノン	ns	ns	ns
	4-0-メトキシカルボニ	250.6±14.1	140.3±8.3	164.0±6.6
	ルメチルアスコフラノン	ns	-26.4% *	-14.0% *
15	平均±標準誤差 * p < 0.05			

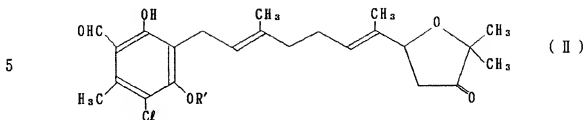
結果は表9に示すように4-0-メトキシカルボニルメチルアスコフラノン投与群では中性脂肪が26.4%、コレステロールが14.0%、4-0-ジエチルカルバモイルアスコフラノン投与群では中性脂肪が17.5%、それぞれ対照群に比べて有意に低値を示した。

産業上の利用可能性

アスコフラノン及び式(II)で示される新規なアスコフラノン誘導体は優れた血糖低下、血中脂質低下作用並びにグリケイション阻害作用を示すので、糖尿病、動脈硬化症等の予防、治療薬として極めて有用である。

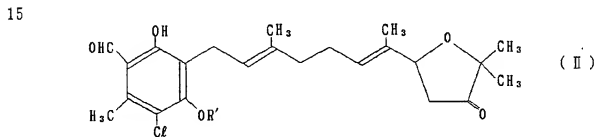
請 求 の 範 囲

1. 一般式 (II)



(式中、R' は低級アルキルカルボニル基、ビリジルカルボニル基、1 個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンスルホニル基、1 個もしくは 2 個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する) で示されるアスコフラノン誘導体。

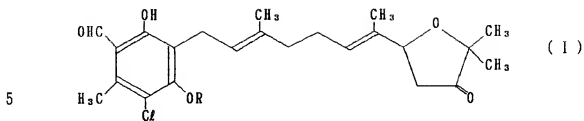
2. 一般式 (II)



20 (式中、R' は低級アルキルカルボニル基、ビリジルカルボニル基、1 個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンスルホニル基、1 個もしくは 2 個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する) で示されるアスコフラノン誘導体を有効成分として含有する血中脂質低下剤。

25

3. 一般式 (I)



(式中、R は水素原子、低級アルキルカルボニル基、ピリジルカルボニル基、1 個の低級アルキル基もしくは低級アルコキシ基で置換されたベンゾイル基、トルエンスルホニル基、1 個もしくは 2 個の低級アルキル基で置換されたカルバモイル基、又は低級アルコキシカルボニル低級アルキル基を意味する) で示される化合物を有効成分として含有する血糖低下剤並びにグリケイション阻害剤。

10

15

20

25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/01135

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl.⁵ C07D307/32, A61K31/34

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl.⁵ C07D307/32, A61K31/34

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, A, 51-36450 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), March 27, 1976 (27. 03. 76), Claim; line 12, upper left column to line 1, upper right column, page 2, line 20, upper right column, page 2 to line 8, upper right column, page 3 (Family: none)	1
X	GB, A, 1,498,334 (MASASHI OKADA), January 18, 1978 (18. 01. 78), Line 17, page 1 to line 7, page 2, lines 1 to 27, page 4, lines 28 to 33, page 4	1

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
August 25, 1993 (25. 08. 93)Date of mailing of the international search report
September 14, 1993 (14. 09. 93)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.³ C07D307/32, A61K31/34

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.³ C07D307/32, A61K31/34

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS ONLINE

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP, A, 51-36450 (中外製薬株式会社) 27. 3月. 1976 (27. 03. 76) 特許請求の範囲および第2頁左上欄第12行-右上欄第1行, 第2頁右上欄第20行-第3頁右上欄第8行 (ファミリーなし)	1
X	GB, A, 1,498,334 (MASASHI OKADA) 18. 1月. 1978 (18. 01. 78) 第1頁第17行-第2頁第7行, 第4頁第1行-第4頁第27	1

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリ

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技术水準を示すもの
 「E」先行文献であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

25. 08. 93

国際調査報告の発送日

14.09.93

名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

宮坂 初男

電話番号 03-3581-1101 内線

3454

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	行, 第 4 頁第 2 8 行 - 第 3 3 行	